

氏 名	越智 拓海
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	理 学
学位授与番号	博甲第5343号
学位授与の日付	平成28年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 地球生命物質科学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Studies on the sexually dimorphic gastrin-releasing peptide system in the lumbosacral spinal cord that controls male reproductive function (雄の性機能を調節する脊髄ガストリン放出ペプチド系の神経ネットワークとその性差構築機構に関する研究)
論文審査委員	准教授 坂本 浩隆 教授 高橋 純夫 教授 坂本 竜哉

学位論文内容の要旨

哺乳類の脊髄に存在するガストリン放出ペプチド (GRP) 系は雄優位な神経ネットワークを構築し、アンドロゲン依存的に雄の性機能を調節する。しかしながら、脊髄 GRP 系を中心とした雄の性機能を調節する神経ネットワークやその性差構築機構は未だ不明である。そこで本研究では、脊髄 GRP 系を中心とした雄の性機能の神経制御機構解明を目的とし、哺乳類を用いて (i) 脊髄 GRP 系を含む神経ネットワーク、および (ii) 脊髄 GRP 系の性差構築機構の解析を行った。

(i) 脊髄 GRP 系を含む神経ネットワークの解析

腰仙髄に存在し、性機能に関わる仙髄副交感神経核 (SPN) への脊髄 GRP ニューロンの投射を、超高圧電子顕微鏡を用いた三次元トモグラフィー法により、超微形態レベルで解析した。その結果、ラット SPN ニューロンの1本の樹状突起への多数の脊髄 GRP ニューロンからのシナプス入力を明らかにした。さらに、シナプスを通過するウイルス (PRV) トレーサーを用い、球海綿体筋 [球海綿体脊髄核の運動ニューロンにより支配される] から脊髄 GRP ニューロン群への神経投射を逆行的に解析した。その結果、およそ半数の GRP ニューロンが PRV 陽性であった。これらのことから、脊髄 GRP ニューロンは雄の性機能に関わる脊髄神経核へのシナプス入力を介して脊髄内に複雑な神経ネットワークを構築し、雄の性機能を調節することを明らかにした。

(ii) 脊髄 GRP 系の性差構築機構の解析

神経細胞特異的にアンドロゲン受容体 (AR) 遺伝子を欠損させたコンディショナルノックアウト (AR^{NesCre}) マウスを用いて脊髄 GRP 系を解析した。その結果、成熟した AR^{NesCre} 雄マウスではコントロール群に比べて GRP ニューロンの細胞体数が有意に減少していた。このことから、神経系で発現する AR を介したアンドロゲンシグナルが脊髄 GRP 系の性差構築に重要であることを明らかにした。そこで、血中テストステロン濃度が劇的に上昇する思春期 (生後 30 日前後) を起点として、脊髄 GRP 系の性差構築過程をラットで調べた。その結果、思春期前の生後 16 日において既に雄優位な性差が存在した。生後 23 日では性差が観察されなかったものの、生後 30 日以降、脊髄 GRP ニューロンの細胞体数に再び雄優位な性差を示した。発達段階において、雄の細胞体数に大きな変化はみられなかったものの、染色強度が有意に増加したことから、思春期以降に上昇する血中テストステロンによって GRP の発現が増加することで、脊髄 GRP 系は雄優位な性差を示すことを明らかにした。一方で、脳の性分化は臨界期に精巣から一過的に大量に分泌されるアンドロゲン (アンドロゲン・シャワー) の作用により起こると考えられている。思春期前の生後 16 日の脊髄 GRP 系において雄優位の性差が既に確認できたことから、脊髄 GRP 系の性差構築においても臨界期のアンドロゲン・シャワーが重要であると考えられる。そこで、脊髄 GRP 系の性差構築機構を明らかにする目的で、臨界期のアンドロゲン・シャワーを操作し、成熟期における脊髄 GRP 系を解析した。生後 0、1 日にアンドロゲン投与した雌の仔ラットを、生後 30 日 (思春期前期) において卵巣摘除し、同時にテストステロンチューブを皮下に植込み、思春期の雄と同等の高アンドロゲン濃度に曝した。その結果、臨界期の雌ラットへのアンドロゲン投与は、成熟期の脊髄 GRP 系を完全に雄性化した。一方、生後 0、1 日の雄ラットで、アンドロゲン・シャワーを阻害すると、脊髄 GRP 系の脱雄性化が起こった。以上のことから、脊髄 GRP 系は臨界期のアンドロゲン・シャワーにより雄性化され、思春期以降に血中で増加するアンドロゲンにより雄優位な性差が構築・維持されるという、脊髄 GRP 系の性差構築機構が二相性であることを明らかにした。今後、脊髄 GRP 系に関してより詳細な解析を進めることで、哺乳類における雄の性機能を司る神経ネットワーク、およびその性差構築機構の全貌解明が期待できる。

論文審査結果の要旨

哺乳類の脊髄に存在するガストリン放出ペプチド（GRP）系は雄優位な神経ネットワークを構築し、アンドロゲン依存的に雄の性機能を調節する。しかしながら、脊髄 GRP 系を中心とした雄の性機能を調節する神経ネットワークやその性差構築機構は未だ不明である。そこで本研究では、哺乳類ラットを用いて、脊髄 GRP 系を中心とした雄の性機能の神経制御機構解明を目的とし、(i) 脊髄 GRP 系を含む神経ネットワーク、および (ii) 脊髄 GRP 系の性差構築機構の解析を行った。

(i) 脊髄 GRP 系を含む神経ネットワークの解析

腰仙髄に存在し、性機能に関わる仙髄副交感神経核への脊髄 GRP ニューロンの投射を、超高圧電子顕微鏡を用いた三次元トモグラフィ法により、超微形態レベルで解析した。次いで、シナプスを通過するウイルストレーサーを用い、球海綿体筋から脊髄 GRP ニューロン群への神経投射を逆行的に解析した。その結果、脊髄 GRP ニューロンは雄の性機能に関わる脊髄神経核へのシナプス入力を通じて脊髄内に複雑な神経ネットワークを構築し、雄の性機能を調節することを明らかにした。

(ii) 脊髄 GRP 系の性差構築機構の解析

脊髄GRP系はアンドロゲン受容体を発現し、アンドロゲン依存的にその発現が制御されることが知られている。げっ歯類の脳の性分化は臨界期に精巣から一過的に大量に分泌されるアンドロゲン（アンドロゲン・シャワー）の作用により起こると考えられている。そこで、脊髄GRP系の性差構築機構を明らかにする目的で、臨界期のアンドロゲン・シャワーを操作し、成熟期における脊髄GRP系を解析した。また、血中テストステロン濃度が劇的に上昇する思春期を起点として、脊髄GRP系の性差構築過程を解析した。その結果、脊髄GRP系は臨界期のアンドロゲン・シャワーにより雄性化され、思春期以降に血中で増加するアンドロゲンにより雄優位な性差が構築・維持されるという、脊髄GRP系の性差構築機構が二相性であることを明らかにした。

これらの研究成果より、越智拓海氏は博士の学位授与に値すると考えられる。